



TITLE:

Regeneration of CD8 $\alpha\beta$ T Cells from T-cell-Derived iPSC Imparts Potent Tumor Antigen-Specific Cytotoxicity(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Maeda, Takuya

CITATION:

Maeda, Takuya. Regeneration of CD8 $\alpha\beta$ T Cells from T-cell-Derived iPSC Imparts Potent Tumor Antigen-Specific Cytotoxicity. 京都大学, 2017, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2017-03-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k20256>

RIGHT:

京都大学	博士（ 医 学）	氏 名	前 田 卓 也
論文題目	Regeneration of CD8αβ T Cells from T-cell-Derived iPSC Imparts Potent Tumor Antigen-Specific Cytotoxicity （がん抗原特異的 T 細胞由来 iPS 細胞を用いたがん抗原特異的細胞傷害活性を持つ CD8 α β 型 T 細胞の再生）		
（論文内容の要旨）			
<p>T 細胞養子免疫療法はがんに対する有効な治療法として期待されているが、患者から採取したがん抗原特異的 T 細胞を体外で増幅することが難しく、治療応用の障壁となっている。この問題点を解決するために、いくつかのグループががん抗原特異的 T 細胞から人工多能性幹細胞（iPS 細胞）を作製し、もう一度 T 細胞へ分化させることで、がん抗原特異的 T 細胞を増幅できることを示してきた。再構成された T 細胞受容体（TCR）遺伝子をもつ T 細胞から樹立した iPS 細胞は再構成済の TCR 遺伝子を受け継ぐ。このため T-iPS 細胞から再生した T 細胞は同一の TCR のみを発現する。T-iPS 細胞はほぼ無限に増幅できるため、再生 T 細胞も無限に作製することができる。しかし、これらの報告で再生された T 細胞のほとんどは、CD8α 鎖のみを発現する CD 8 α α 型 T 細胞であり、自然免疫型のリンパ球に近いと考えられた。実際にこうして再生した CD8 α α 型 T 細胞は、抗原特異的細胞傷害活性が弱かった。また、がん患者からがん抗原特異的 T 細胞を採取し T-iPS 細胞を作製するには、時間および費用がかかりすぎるため、この手法を臨床応用することは困難であると考えられた。</p> <p>本研究ではこれらの問題点を解決するために、①健常人からがん抗原特異的 T-iPS 細胞を作製すること、②T-iPS 細胞から T 細胞を分化培養する方法に改良を加え、通常の細胞傷害性 T 細胞（CTL）と同様の CD8α β 型の T 細胞への分化培養系を確立することを目的とした。</p> <p>まずは HLA-A*24:02 陽性の健常人から EB ウィルスが発現する LMP2 に対する抗原特異的 T-iPS 細胞を樹立した。LMP2 は EB ウィルスが発がんに関係している、上咽頭がんやホジキンリンパ腫などに発現しており、治療標的となるがん抗原として期待されている。樹立した LMP2-T-iPS 細胞を従来の方法で T 細胞へ分化培養したところ、CD8α α 型 T 細胞へ分化した。再生 CD8α α 型 T 細胞は、抗原特異的細胞傷害活性が元の CTL と比べおよそ 100 倍弱いことが判明した。</p> <p>本報告では T-iPS 細胞から分化培養した CD4/8 共陽性細胞（DP 細胞）を単離し抗 CD3 抗体で T 細胞受容体（TCR）へ刺激を加えると、CD8α β 型 T 細胞に分化することが分かった。CD4/8 共陽性細胞（DP 細胞）を単離しない従来の方法では、CD4/8 共陰性細胞（DN 細胞）が混在した状態で刺激していたが、この条件では DN 細胞が活性化をうけ DP 細胞を殺傷することによって、CD8 α β 型 T 細胞の生成を阻害していたことが判明した。再生 CD8α β 型 T 細胞は抗原特異的細胞傷害活性が高いことを確認した。</p> <p>次にこの方法を急性骨髄性白血病（AML）などに高発現している WT1 抗原に応用した。HLA-A*24:02 陽性の健常人より WT1 特異的 T-iPS 細胞を樹立し、CD8α β 型 T 細胞の再生に成功した。再生 CD8α β 型 T 細胞は、HLA-A*24:02 陽性かつ WT1 抗原陽性の白血病細胞株および患者由来白血病細胞を抗原特異</p>			

<p>的に殺傷することを確認した。また免疫不全マウスを用いた異種移植モデルにおいても治療効果があることを確認した。</p> <p>この方法を用い、がん抗原特異的 T 細胞をあらかじめ増幅しストック化することで、即納可能な（Off-the-shelf）T 細胞製剤が作製できる可能性を示した。</p> <p>（論文審査の結果の要旨）</p> <p>がんに対する T 細胞養子免疫療法は期待されているが、がん抗原特異的 T 細胞を安定して増幅できないという問題があった。これを解決するために、がん抗原特異的 CTL より樹立した T-iPS 細胞から CTL を再生し治療に用いる研究がなされてきた。これまで、T-iPS 細胞から CD8α 分子を発現する T 細胞への分化方法は報告されてきたが、それらの再生 T 細胞は CD8 β 分子を発現せず、自然免疫系リンパ球に近い性質をもっていた。この CD8α α 型再生 T 細胞は抗原特異的細胞傷害活性が低く、一方で抗原非特異的な細胞傷害活性が高かった。本研究では分化誘導培養方法を改良し、新規の培養法を確立した。新しい方法のポイントは CD4/8 共陽性細胞を単離し、T 細胞受容体を刺激することである。この操作により、CD8α β ヘテロ二量体を発現する CTL へと分化させることに成功した。再生 CD8α β 型 CTL は元の CTL に匹敵する抗原特異的細胞傷害活性をもち、一方で抗原非特異的細胞傷害活性は低く抑えられていた。この方法で作製した WT1 特異的再生 CTL は、WT1 抗原を内因性に発現する白血病細胞株、あるいは患者由来白血病細胞を抗原特異的に傷害し、免疫不全マウスを用いたヒト白血病モデルで延命効果を示した。</p> <p>以上の研究は T-iPS 細胞から CD8α β 型 T 細胞の作製方法の開発に貢献し、今後の T 細胞養子免疫療法の発展に寄与するところが大い。</p> <p>したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、平成 2 8 年 2 月 2 0 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。</p>			
要旨公開可能日： 年 月 日 以降			